

# 特発性低身長症患者86名における次世代シーケンサーを用いた低身長症原因遺伝子変異解析

|        |   |
|--------|---|
| 著者     | 服部 淳  |
| 号      | 89  |
| 学位授与機関 | Tohoku University   |
| 学位授与番号 | 医博第3958号  |
| URL    | <a href="http://hdl.handle.net/10097/00129359">http://hdl.handle.net/10097/00129359</a> |

|         |   |
|---------|---|
| 氏 名     | はっとり あつし<br>服部 淳                                  |
| 学位の種類   | 博士(医学)  |
| 学位授与年月日 | 2019年9月25日  |
| 学位授与の条件 | 学位規則第4条第1項  |
| 研究科専攻   | 東北大学大学院医学系研究科(博士課程)医科学専攻                          |
| 学位論文題目  | 特発性低身長症患者 86 名における次世代シーケンサーを用いた低身長症原因遺伝子変異解析      |
| 論文審査委員  | 主査 教授 呉 繁夫      教授 松原 洋一<br>教授 青木 洋子      教授 菅原 明 |

## 論文内容要旨

特発性低身長症は、「身長が属する集団での当該年齢、性別における平均よりも-2 SD をこえて低く、全身疾患、内分泌疾患、栄養障害、染色体異常などの証拠がない状態」と定義される。一般的に、特発性低身長症の臨床像は、骨系統疾患や、成長ホルモン (GH)-インスリン様成長因子 1 (IGF1) 軸異常症とは異なる。しかし近年、臨床的に特発性低身長症と診断された患者において、骨系統疾患の原因遺伝子である *ACAN*, *FGFR3*, *NPR2*, *SHOX* の変異が報告された。また、GH-IGF1 軸異常症の原因遺伝子である *GHRHR*, *GHI*, *GHR*, *STAT5B*, *IGF1*, *IGFALS*, *IGFIR* のうち、*GHR*, *IGFALS*, *IGFIR* 変異が、血清 GH 値、血清 IGF1 値正常の低身長症患者で報告されている。上記遺伝子の中で、*SHOX* 異常症は特発性低身長症患者の 4% を占めるとされる。一方、*SHOX* 以外の 10 遺伝子の変異の、特発性低身長症における占める割合は不明である。そこでわれわれは、これらの 10 遺伝子の変異の、特発性低身長症の病因への寄与の有無を明らかにすること、および変異をもつ患者の臨床像を明らかにすることを目的とし、患者群での変異スクリーニングと臨床像の検討を行った。86 名の *SHOX* 異常のない日本人特発性低身長症患者に対し、次世代シーケンサーを用いて 10 遺伝子の塩基配列を解析した。検出されたバリエーションのうち、一般集団におけるアリル頻度が 0.01 未満である希少非同義バリエーションを抽出し、Sanger 法によるバリエーションの確認と *in silico* 解析による機能予測を行った。希少バリエーションを同定した患者の両親について、DNA 検体が得られる場合には遺伝型を Sanger 法で確認した。また、希少バリエーションをもつ患者の臨床像についても検討した。その結果、19 名の患者で、18 種類の希少なヘテロ接合性非同義バリエーションを同定した。その内訳は、病原性ありと推測される 4 つの *ACAN* バリエーション、*FGFR3*, *GHRHR*, *GHR*, *IGFALS* で同定された 6 つの病原性不明のバリエーション、8 つの病原性が高くないと推測されるバリエーションであった。*NPR2*, *GHI*, *IGF1* の希少バリエーションは検出されなかった。これまでの報告と異なり、*ACAN* バリエーションを有する 4 名の患者では、明らかな骨の変形や関節症状、骨年齢促進がみられず、両親の身長は正常範囲内であった。また p.Tyr349Cys をもつ患者の母親に、同じバリエーションを同定した。この結果から、*ACAN* 変異の表現型の多様性と特発性低身長症における重要性が明らかになった。一方、今回の結果から、*FGFR3*, *NPR2*, および GH-IGF1 軸遺伝子の特発性低身長症への寄与は限定的であることが示唆された。特に重要な点として、骨年齢促進が見られない特発性低身長症患者であっても *ACAN* 変異の可能性があることが示された。また、特発性低身長症患者の *ACAN* 変異には、*de novo* 変異や低浸透率の変異が多く含まれる可能性が示された。このことから、家族性低身長症のみならず孤発性の低身長症においても *ACAN* 変異スクリーニングが重要であると考えられる。本研究の成果は、低身長症患者の遺伝カウンセリング、予後予測、より良い治療法

(書式12)

の選択に直接役立つ。また本研究は、遺伝学的原因に基づく特発性低身長 の病型分類の基盤となる。

## 審 査 結 果 の 要 旨

博士論文題目 特発性低身長症患者 86 名における次世代シーケンサーを用いた

低身長症原因遺伝子変異解析

所属専攻・分野名 医科学専攻 （連）次世代小児医療講座分野

学籍番号 B6MD5156 氏名 服部 淳

特発性低身長症は、「身長が属する集団での当該年齢、性別における平均よりも $-2$  SD をこえて低く、全身疾患、内分泌疾患、栄養障害、染色体異常などの証拠がない状態」と定義される。一般的に、特発性低身長症の臨床像は、骨系統疾患や、成長ホルモン (GH)-インスリン様成長因子 1 (IGF1) 軸異常症とは異なる。しかし近年、臨床的に特発性低身長症と診断された患者において、骨系統疾患の原因遺伝子である *ACAN*, *FGFR3*, *NPR2*, *SHOX* の変異が報告された。また、GH-IGF1 軸異常症の原因遺伝子である *GHRHR*, *GH1*, *GHR*, *STAT5B*, *IGF1*, *IGFALS*, *IGF1R* のうち、*GHR*, *IGFALS*, *IGF1R* 変異が、血清 GH 値、血清 IGF1 値正常の低身長症患者で報告されている。上記遺伝子の中で、*SHOX* 異常症は特発性低身長症患者の 4% を占めるとされる。一方、*SHOX* 以外の 10 遺伝子の変異の、特発性低身長症における占める割合は不明である。そこでわれわれは、これらの 10 遺伝子の変異の、特発性低身長症の病因への寄与の有無を明らかにすること、および変異をもつ患者の臨床像を明らかにすることを目的とし、患者群での変異スクリーニングと臨床像の検討を行った。86 名の *SHOX* 異常のない日本人特発性低身長症患者に対し、次世代シーケンサーを用いて 10 遺伝子の塩基配列を解析した。検出されたバリエントのうち、一般集団におけるアليل頻度が 0.01 未満である希少非同義バリエントを抽出し、Sanger 法によるバリエントの確認と *in silico* 解析による機能予測を行った。希少バリエントを同定した患者の両親について、DNA 検体が得られる場合には遺伝型を Sanger 法で確認した。また、希少バリエントをもつ患者の臨床像についても検討した。その結果、19 名の患者で、18 種類の希少なヘテロ接合性非同義バリエントを同定した。その内訳は、病原性ありと推測される 4 つの *ACAN* バリエント、*FGFR3*, *GHRHR*, *GHR*, *IGFALS* で同定された 6 つの病原性不明のバリエント、8 つの病原性が高くないと推測されるバリエントであった。*NPR2*, *GH1*, *IGF1* の希少バリエントは検出されなかった。これまでの報告と異なり、*ACAN* バリエントを有する 4 人の患者では、明らかな骨の変形や関節症状、骨年齢促進がみられず、両親の身長は正常範囲内であった。また p.Tyr349Cys をもつ患者の母親に、同じバリエントを同定した。この結果から、*ACAN* 変異の表現型の多様性と特発性低身長症における重要性が明らかになった。一方、今回の結果から、*FGFR3*, *NPR2*, および GH-IGF1 軸遺伝子の特発性低身長症への寄与は限定的であることが示唆された。特に重要な点として、骨年齢促進が見られない特発性低身長患者であっても *ACAN* 変異の可能性があることが示された。また、特発性低身長症患者の *ACAN* 変異には、*de novo* 変異や低浸透率の変異が多く含まれる可能性が示された。このことから、家族性低身長症のみならず孤発性の低身長症においても *ACAN* 変異スクリーニングが重要であると考えられる。本研究の成果は、低身長症患者の遺伝カウンセリング、予後予測、より良い治療法の選択に直接役立つ。また本研究は、遺伝学的原因に基づく特発性低身長の病型分類の基盤となる。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。